

Aus der Chirurgischen Universitätsklinik in Marburg
Direktor: Prof. Dr. med. M. Schwaiger

THESIS

MARBURG

1968

Zur Frage des Tumorzellnachweises
im Blut und Knochenmark

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin der Hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps - Universität zu Marburg

vorgelegt von

Helga Fibich geb. Euler
aus Korbach

Marburg 1968

Zur Frage des Tumorzellnachweises
im Blut und Knochenmark

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin der Hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps - Universität zu Marburg

vorgelegt von

Helga Fibich geb. Euler
aus Korbach

Marburg 1968

Angenommen von der Medizinischen Fakultät
der Universität Marburg am 19. 2. 1968

Gedruckt mit Genehmigung der Fakultät

Dekan: Prof. Dr. med. R. Siegert

Referent: Prof. Dr. med. H.-J. Streicher

Correferent: Prof. Dr. med. M. Schwaiger

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Einleitung	4
1. Untersuchungsergebnisse	6
a) Berichte mit überwiegend positiven Befunden	9
b) Berichte mit überwiegend negativen Befunden	11
c) Knochenmarkspunktate	13
Tabellen	15
2. Allgemeine Methodik	22
3. Material und Methodik	24
4. Eigene Ergebnisse	27
I) Blut	27
II) Sternalmark	28
Bildmaterial	29
5. Vergleich der Statistiken verschiedener Autoren mit unseren Ergebnissen	31
6. Diskussion	35
7. Zusammenfassung	41
Literaturverzeichnis	43

Zur Frage des Tumorzellnachweises im

Blut und Knochenmark

Als Morgagni im Jahre 1761 in seinem Buch "De sedibus et causis morborum" feststellte, daß Krankheit als Störung des normalen Baues der menschlichen Organe aufzufassen sei, wußte er noch nichts von der Zelle als Baustein des Gesamtorganismus. Erst ungefähr hundert Jahre später fand Virchow, daß die Zellen "die wahren Träger der lebendigen Funktion" sind, und damit Krankheit auf einer Störung der Zelle beruht.

Virchow war es, der 1863 erstmals über das Eindringen von Geschwulstzellen in Blut- und Lymphbahn berichtete und damit eine entscheidende Eigenschaft bösartiger Geschwülste entdeckte: das ungehemmte Wachstum mit Durchbrechen der Gewebs- und Organschränken. Bis heute kennen wir die Ursache für dieses Verhalten nicht. Die Karzinomzelle ist gegenüber der normalen Zelle durch bestimmte morphologische Veränderungen gekennzeichnet. Eine einzige Abweichung vom Normalbild der Zelle sagt noch nichts Entscheidendes über den Charakter der Zelle aus, erst die Summe dieser "Kriterien" oder "Indizien" (v. Albertini) an mehreren Zellen beobachtet spricht für einen bösartigen Tumor.

An der Einzelzelle finden wir als Zeichen der Malignität:

- Zell- und Kernvergrößerung,
- Kernpolymorphie,
- Atypie des Chromatingerüstes,
- Verschiebung der Kern-Plasma-Relation zugunsten des Kernes (0,33),
- Mitoseveränderungen,
- erhöhte Färbungsintensität und Anfärbegeschwindigkeit,
- Kernkörperchen-Kern-Relation mit Rechtsverschiebung

und Verbreiterung der Kurve (s. Streicher und Sandkühler, Klinische Zytologie),

Wie weit diese morphologischen Kriterien es gestatten, an einer einzelnen Zelle über Benignität oder Malignität zu entscheiden, wird später besprochen werden.

Neben diesen morphologischen Veränderungen gibt es auch im biochemischen Verhalten der Karzinomzelle Abweichungen von der normalen Zelle. Beispielsweise ist die Oxydation zugunsten der Glykolyse gehemmt (nach Warburg). Man weiß allerdings bis heute nicht, warum bösartige Tumoren - auch in Gegenwart von Sauerstoff - glykolysieren. Qualitativ sind die Enzyme des Zitronensäurezyklus und der Atmungskette in einer Karzinomzelle denen der normalen Zelle nicht unterlegen. Wahrscheinlich reicht aber die Enzymkonzentration bei der erhöhten Wachstumstendenz der Tumorzelle nicht aus. Als Ausgleich dafür besitzt sie eine höhere Konzentration an glykolytischen Enzymen, besonders der Triosephosphatdehydrase (Holzer).

Eine weitere Störung des Zellstoffwechsels der Tumorzelle bedeutet die Erhöhung des Nukleinsäuregehaltes. Sandritter fand, daß etwa 70% von Karzinomzellkernen über einer bestimmten Grenze des Nukleinsäuregehaltes liegen, während von den normalen Zellkernen nur 1,3% diese Grenze überschreiten. Die morphologischen Veränderungen des Zellkernes sind hierauf zurückzuführen.

Doch sowohl die gesteigerte Glykolyse als auch die Vermehrung der Nukleinsäuren spielen keine Rolle bei der üblichen Krebsdiagnostik.

In der Regel wird die Bösartigkeit eines Tumors aus den Veränderungen der Zellen und des Gewebes abgeleitet. Das wichtigste histologische Kennzeichen des bösartigen Tumors ist das infiltrative Wachstum mit Eindringen in die Lymph- und Blutbahnen. Für die Prognose ist es deshalb wichtig zu wissen, ob bereits und in welchem Umfange Tumorzellen in die Blutbahn gelangt sind, um so eventuell eine mögliche Fernmetastasierung beurteilen zu können.

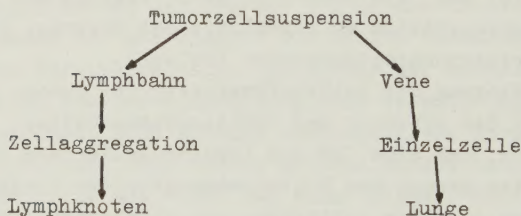
1. Untersuchungsergebnisse

V i r c h o w berichtete 1863 über das Einwachsen von Geschwulstzellen in Blut- und Lymphgefäße . Nach G o l d m a n n brechen Karzinome fast immer in Venen ein. Wir kennen heute diese zwei Wege, auf denen bösartige Tumoren ihre Zellen ausschwemmen können:

1. über den Lymphweg,
2. über die Blutbahn.

Wie verhalten sich nun Tumorzellen, die in die Lymphbahn eingedrungen sind im Vergleich zu Tumorzellen in den Venen?

Z e i d m a n hat sich theoretisch und praktisch mit dieser Frage beschäftigt.



Das Schema zeigt eine theoretische Möglichkeit vom Verhalten von Tumorzellen in Lymphbahn und Vene.

Im Lymphknoten sind die Tumorzellen von nekrotischen Zellen des Ursprungstumors umgeben, so daß die Diffusion von Metaboliten weitgehend verhindert ist. Die Einzelzelle dagegen ist ohne "Ernährungsblock".

Die Tiere, denen Tumorzellen in die Lymphbahnen injiziert wurden, bildeten in einem geringen Prozentsatz (10 - 15%) Lymphknotenmetastasen, ganz selten

Lungenmetastasen. Hingegen fanden sich bei Tieren mit intravenös injizierten Tumorzellen keine Lymphknoten- jedoch in der Hälfte der Fälle Lungenmetastasen. Die weitere Metastasierung erfolgt von den Lymphknoten- oder den Lungenmetastasen aus.

Welche Aufgabe fällt nun den Lymphknoten bei der Aussaat von Tumorzellen zu?

Die Tumorzellen siedeln sich hauptsächlich im subkapsulären Lymphsinus an. Die experimentellen Ergebnisse lassen vermuten, daß ein Teil der Tumorzellemboli in den Lymphknoten zerstört wird. Die Streuung von Karzinomzellen wird also eine gewisse Zeit vom Lymphknoten verhindert. Beispielsweise wiesen nur 2 von 30 Tieren, die mit einer Tumorzellsuspension in das afferente Lymphgefäß des Poplitea-Lymphknoten versehen waren, Beckenmetastasen auf und zwar erst nach einem Zeitraum von 4 - 6 Wochen.

Schon im vorigen Jahrhundert wurden Tumorzellen im peripheren Blut nachgewiesen.

A s h w o r t h fand 1869 postmortal bei einem Patienten mit malignem Hauttumor Tumorzellen im peripheren Venenblut. 1898 wies Zahn nach, daß Krebszellen den kleinen Kreislauf passieren und in den großen Kreislauf einbrechen können, ohne Lungenmetastasen zu setzen. Dies ist zum Beispiel der Fall bei Melanomen, die oft weitverstreute Metastasen des Magen-Darmtrakts bilden, ohne daß ein Tumorwachstum in der Lunge nachzuweisen ist. Osteogene Sarkome dagegen bilden fast immer nur Lungenmetastasen. Welche Faktoren bei dieser unterschiedlichen Verhaltensweise eine Rolle spielen, ist noch nicht geklärt.

1903 entdeckte M. B. S c h m i d t , daß Krebszellen in den kleinen Lungenarterien von fibrösen Thromben eingeschlossen werden. 1906 stellte S c h l e i p Blutausstriche von Patienten mit Magenkarzinomen und

Knochenmetastasen her. Bei 4,9% fanden sich zwei Tage vor dem Tod, bei 11,8% nach dem Tod "abnorme Zellen". 1913 entdeckte W a r d 20-30 μ große atypische Zellen im Blutaussstrich eines Patienten mit einem Magenkarzinom. M a r c u s beobachtete 1919 blutfremde Zellen im Blut eines Patienten mit einem Bronchialkarzinom. Q u e n s e l (1921) suchte im Leichenblut von 50 an bösartigen Tumoren zugrunde gegangenen Patienten nach Tumorzellen. Er entnahm Blut aus dem rechten Herzvorhof und fand bei 6 Patienten Karzinomzellen (4 Magen-, 1 Lungenkarzinom, 1 Hypernephrom). S t e r n b e r g wies 1929 darauf hin, daß Tumorzellen schon frühzeitig in kleine Gefäße einbrechen können und auf diesem Weg in die Blutbahn gelangen. Die bis zu dieser Zeit bekannten Ergebnisse stammten von Einzeluntersuchungen oder aus dem Sektionsgut. 1934 erschienen von P o o l und D u n l o p zum ersten Mal Ergebnisse eines systematischen Nachweises von Tumorzellen im Blut. Sie fanden unter 40 Patienten mit fortgeschrittenen Tumoren 17 Patienten mit "tumorverdächtigen Zellen". 1941 prüften D u k e s und B u s s e y, in welchem Ausmaß eine venöse Aussaat stattfindet. Sie fanden in 16% ihrer Fälle verdächtige Zellen im Blut. Sie stellten weiterhin fest, daß besonders Tumoren im oberen Drittel des Rektum zur Aussaat neigen.

Diese frühen Arbeiten wurden erst 1955 von H.C.

E n g e l l aufgegriffen. Nach seinen Untersuchungen ist besonders hervorzuheben:

1. Die hämatogene Aussaat eines malignen Tumors hängt vom Grad seiner histologischen Differenzierung ab.
2. Tumorzellen sind zu selten im peripheren Blut, um von diagnostischem Wert zu sein.
3. Der Nachweis von Krebszellen im Blut hat keine prognostische Bedeutung; wahrscheinlich werden

in manchen Fällen alle im Blut erscheinenden Krebszellen zerstört.

4. Nach operativen Manipulationen am Tumor ist keine wesentliche Vermehrung von Tumorzellen im Blut nachweisbar. Deshalb wird durch Unterbindung aller Gefäße das Auftreten postoperativer Metastasen kaum zu verhindern sein. Trotz dieser wenig ermutigenden Feststellungen bemühten und bemühen sich weiter verschiedene Arbeitsgruppen um den Tumorzellnachweis im Blut und Knochenmark. Neben sehr zurückhaltenden Berichten über Befund, Wert und Zukunft dieses Gebietes, gibt es auch optimistische Berichte und vor allem auch Ergebnisse, die Engells Befunden und Schlußfolgerungen widersprechen. Punkt 4 seiner Arbeit wird von mehreren Autoren widerlegt (Roberts, Long et al., Griffiths, Scheinin). Fisher, Turnbull und Soost stellten fest, daß zumindest in einem Teil der Fälle eine Aussaat von Tumorzellen während der Operation stattfindet.

a) Berichte mit überwiegend positiven Ergebnissen:

1955 veröffentlichten F i s h e r und T u r n b u l l ihre Befunde. Unter 25 Patienten fanden sie bei 8 Patienten Zellen im peripheren Blut, die mit einem Tumordirektausstrich identisch waren. M o o r e und S a n d b e r g untersuchten in 179 Fällen peripheres Blut und in 109 Fällen Blut aus dem venösen Abflußgebiet des karzinomatösen Organes. Sie wiesen in 52% der Fälle in der Peripherie und in 55% lokal Tumorzellen nach. R o b e et al. fand bei operablen Tumorzellen in 16,7% und bei inoperablen in 31,1% Tumorzellen im Blut. 1958 beobachteten O h a u d h u r i und B a h l bei etwa 12% ihrer Patienten Tumorzellen im peripheren Blut und Sternalmark. E n g e l l teilte 1959 Beobachtungen an 125 Intestinalkarzinomen mit, deren Träger teilweise eine Überlebenszeit von 5-9 Jahren aufwiesen.

Die Blutproben aller Fälle waren in 61% während der Operation positiv, die der 5 Jahre überlebenden in 51% positiv. R o m s d a h l fand die hohe Zahl von 70% positiver Fälle bei 36 Melanomkranken. Außerdem zeigte sich ein deutlicher Zusammenhang zwischen dem Stadium der Tumorkrankheit und der Tumorzellzahl im Blut. Untersuchungen von P o t t e r (1960) ergaben bei 40 Patienten 17 positive Befunde. Einen großen Querschnitt erfaßten P o t t e r , L o n g e n b a u g h , C h u u. a. mit Untersuchungen an 375 Patienten, von denen sie bei 285 peripheres Blut, von den übrigen 90 Fällen Blut aus der abführenden Vene des karzinomatösen Organs untersuchten. Tumorzellen fanden sich im peripheren Blut bei 28%, im Blut der abführenden Vene bei 43%.

Nach H e r r m a n n (1961) liegen die positiven Befunde bei Patienten mit malignen Tumoren im HNO - Bereich bei 70-80%. Er führt diese hohen Werte auf die starke Traumatisierung des Kau- und Respirationstraktes zurück. Bemerkenswert hierbei ist, daß trotzdem Fernmetastasen von Tumoren des Gesichtsschädels äußerst selten sind.

R o b e r t s , L o n g und J o n a s s o n prüften 1960, ob und in wieviel Fällen bei der Curettage von Patientinnen mit Malignomen des Uterus eine Streuung stattfindet. 10 Patientinnen wurden untersucht, von denen 3 gutartige Tumoren, 2 je ein Carcinoma in situ und Epidermoidkarzinom hatten. Bei 5 malignen Tumoren wiesen 4 positive Blutbefunde auf, davon 3 wiederum nur während der Curettage.

Bei einem Drittel von 136 Genitalkarzinomen fand S o o s t 1960 Tumorzellen in der Peripherie. S c h u l t i s , M a g g i und B i k f a l v i färbten mit fluoreszierenden Farbstoffen und fanden bei etwa 14% ihrer Karzinomkranken Tumorzellen im Blut. S h i b a t a , R i t c h i e , H o p k i r k und

L o n g teilten 1963 die Ergebnisse von 163 Patienten mit Brustkrebs und von 44 Patienten mit Karzinomen des Magendarmtraktes mit. Bei den Mammakarzinomen fanden sie in 89% der Fälle, bei den Karzinomen des Verdauungstraktes in 70% Tumorzellen in der Peripherie. Auf Grund dieser Ergebnisse kamen die Autoren zu dem Schluß, daß bei allen Karzinomkranken Tumorzellen im Blut zu finden seien, daß der Nachweis aber abhängig von der Technik sei.

1964 erschien eine Arbeit von K r ü c k e m e y e r über die Tumorzell Diagnostik im Leichenblutgerinnsel. Er untersuchte 100 Fälle und fand bei 36% Tumorzellen. Diese große Zahl an positiven Befunden führt Krückemeyer darauf zurück, daß er größere Blutmengen einmal aus den Herzhöhlen und zum anderen direkt aus dem Abflußgebiet des Karzinoms entnehmen konnte.

K l a s s e n und S e l b a c h brachten 1965 ihre Ergebnisse von 61 Patienten mit Bronchialkarzinomen heraus. Sie unterteilten ihr Krankengut in drei Kategorien- den drei Stadien der Karzinomausbreitung entsprechend. Insgesamt fanden sie bei 41% in den abführenden Lungengefäßen und bei 12% im peripheren Blut Tumorzellen. Zusätzlich hatten sie 47 Patienten mit nicht malignen Lungenaffektionen untersucht, bei denen sie in einem Fall vermeintliche Tumorzellen fanden ("a false positive error").

b) Berichte mit überwiegend negativen Ergebnissen:

S a n d b e r g , M o o r e und S c h u b a r g stellten 1959 fest, daß man mit der Diagnose "Tumorzelle" sehr zurückhaltend sein müsse, da auch bei gesunden Kontrollpersonen "atypische Zellen" aufgetaucht seien, die sich als Plasmazellen, Makrophagen, Endothelzellen und Megakaryozyten herausgestellt hätten.

M e i s e l s et al. gelangten zu extremen Ergebnissen

bei der Untersuchung von 64 Patienten mit fortgeschrittenen Karzinomen, 5 Kontrollpersonen und 2 schwangeren Frauen. In 28 Fällen wurden "atypische Zellen" gefunden. Als "atypisch" wurden Zellen angesehen, die morphologische Zeichen aufwiesen, die gewöhnlich bei Zellen im strömenden Blut nicht beobachtet werden. Bei allen diesen Zellen konnten Kriterien der Malignität diagnostiziert werden. Im Vergleich mit Ausstrichen gesunden Knochenmarks wurde offensichtlich, daß es sich bei allen atypischen Zellen um Megakaryozyten handelte. Bemerkenswert bei diesem Ergebnis ist weiterhin, daß die Megakaryozyten nur bei Karzinomkranken und den beiden schwangeren Frauen gefunden wurden und nicht bei den Kontrollpatienten. Über die Bedeutung dieser Tatsache sind sich weder die Verfasser noch andere Autoren mit ähnlichen Ergebnissen im klaren. 1958 berichtete W h a n g über Befunde von Blutaussstrichen aus der Vena cubitalis und femoralis sowie aus venösen Abflüssen karzinomatöser Organe. Alle 37 Proben aus der Peripherie waren negativ. Nur in einem Fall eines Ausstriches aus Regionalvenen eines Tumors entdeckte er eine sichere Karzinomzelle.

A l e x a n d e r und S p r i g g s warnten ebenfalls vor übereilten "positiven" Diagnosen und forderten eine genaue Untersuchung und deskriptive Erfassung atypischer, jedoch nicht karzinomatöser Zellen.

Scheinin berichtete 1962 über seine Untersuchungen an 53 Patienten mit einem Lungenkarzinom. Nur bei einem der Patienten waren Tumorzellen in der Peripherie nachweisbar. Aus den Pulmonalvenen konnten nach Manipulation in 3 von 29 Fällen Tumorzellverbände festgestellt werden. N a b a r fand bei 20% seiner Karzinomkranken "ungewöhnliche" Zellen, die nicht einzuordnen waren.

S t e i n, H a r d i n g und M a u r o arbeiteten mit der Fluoreszenztechnik. Dabei konnten sie in vielen Fällen die atypischen Zellen nicht einordnen.

B o u v i e r, M a u r i c e und R o c h entdeckten 1962 bei 130 Patienten mit soliden Karzinomen "vermeintliche" Karzinomzellen in 8,5%. Auch sie vertreten die Ansicht, daß den seltener vorkommenden Blutelementen, die Karzinomzellen ähneln, mehr Aufmerksamkeit gewidmet werden sollte. So konnten H a e m m e r l i und S t r ä u l i (1963) in einem Fall von Prostatakarzinom mit ausgedehnter Knochenmetastasierung Osteoklasten im peripheren Blut nachweisen.

M e l a m e d konnte keine Beziehung zwischen der Häufigkeit des Tumorzellnachweises und dem Krankheitsstadium und zwischen chirurgischem Trauma und der Aussaat von Tumorzellen feststellen. C h o n é und B e c k e r (1963) beobachteten bei einem Krankengut von 220 Patienten nur in 3 Fällen Tumorzellen im peripheren Blut.

c) Knochenmarkspunktate

Erst seit kurzer Zeit wird systematisch nach Tumorzellen im Knochenmark gefahndet. 1931 beschrieb P ä s s l e r das häufige Vorkommen von Sternalmarkmetastasen bei Karzinompatienten. 1936 schlug H e n n i n g vor, um eine bessere Ausbeute zu erzielen, am "Ort der Wahl", also nicht unbedingt im Sternalmark zu punktieren. Auf diese Weise fand Henning in 50% seiner Fälle mit röntgenologisch nachgewiesenen Knochenmetastasen Tumorzellen. Auf Grund dieser Veröffentlichung versuchten M a r k o f f (1938), T i s c h e n d o r f und F r a n k (1940) wie auch F r a n c k e (1940) unabhängig voneinander nach dieser Methode vorzugehen. Alle genannten Forschungsgruppen beobachteten bei etwa 40-50% der Patienten Tumorzellen im Mark.

Ergebnisse von einer ersten größeren Untersuchungsreihe veröffentlichten 1937 R o h r und H e g g l i n. Unter 74 Patienten mit Tumoren aller Arten konnten sie

in 10 Fällen Tumorzellen im Sternalmark nachweisen. S e l b e r g untersuchte 1943 das Sternalmark von 115 Karzinompatienten post mortem und fand 13 positive Fälle. F l e i s c h e r berichtete 1961 von einem Patienten, dessen Sternalpunktat auf eine Retikulosarkomatose hinzudeuten schien. Bei der Obduktion wurde ein Bronchialkarzinom mit ausgedehnter Metastasierung in Leber und Femur festgestellt. Die zunächst als Retikulumzellen angesehenen Zellen im Sternalpunktat mußten retrospektiv als Metastasen eines kleinzelligen Bronchialkarzinoms aufgefaßt werden. Insgesamt fand Fleischer in 13 von 70 Sternalpunktaten Tumorzellen. G i m m und K r ö n k e untersuchten Sternalpunktate von 94 Patienten mit gesicherten Karzinomen und von 6 Patienten mit Verdacht auf einen bösartigen Tumor. Sie fanden in 33 Fällen sichere, in 22 Fällen fragliche Krebszellen und hatten in 45 Fällen einen negativen Befund.

Tabelle I

Tabellarische Übersicht (1869 - 1965) über Ergebnisse von Tumorzellbefunden im peripheren Blut und im Venenblut der karzinomatös veränderten Organe.

Autor	Publ. Jahr	Zahl der Fälle	Tumorart	Entn. St.	%	Manip., Op.
Ashworth	1869	1	mal. Haut-Tu.	Periph.	-	post mortem
Schleip	1906	2	Magen-Ca. gen. Sarkomat.	Periph. Diff. BB	4,9-11,8 10-54	vor-nach
Ward	1913	1	Magen-Ca.	Periph.	-	-
Marcus	1919	1	Bronch. Ca.	Periph.	-	-
Quensel	1921	50	Magen, Bron. Ca. Hyperneph.	re. Herzvh.	8,3	post mortem
Pool, Dunlop	1934	40	fortgeschr. Tu	Periph.	42,5	-
Dukes, Bussey	1941		überw. Rekt. Tu	Periph. + lok.	16	-
Engell	1955	140	überw. Rekt. + Col. Tu	Periph. + lok.	7,9-61	während

Autor	Publ. Jahr	Zahl der Fälle	Tumorart	Entn. St.	%	Manip. Op.
Fisher u. Turnbull	1955	25	Rekt. Col.	V. mesent.	32	während
Berg u. Schuberg	1957	109	Melan. Mam. Bron.	lok.	55	während
Adamson	1957	50	Golon	Periph. V. mesent.	0 0	während
Robe et al.			operabel inop.		16,7 31,1	
Chaudhuri u. Bahl	1958	25	Mamma-Ca.	Periph. u. St. P.	12 12	vor-nach

Tabelle II

Untersuchungen mit überwiegend positiven Ergebnissen

Autor	Publ. Jahr	Zahl der Fälle	Tumorart	Entn. St.	%	Manip., Op.
Engell	1959	125	Intest. (5 Jahre Überlebende)	ven. Abfl.	61	während
Romsdahl		36	Melan.		70	
Potter	1960	40			42	
Potter u. Longenbaugh	1960	375		285 Periph.	28	
Roberts, Long u. Jonasson	1960	10 (5 mal.)	gyn. Ca	90 lok. Periph.	43 80	während vor u. nach Curettage
Soost	1960	136	gyn. Ca	Periph.	33	
Herrmann	1961		Tu d. HNO	Periph.	70-80	
Shibata et al.	1963	163	Mamma	Periph.	89	
		44	Intest.	Periph.	70	

Autor	Publ. Jahr	Zahl der Fälle	Tumorart	Entn. St.	%	Manip., Op.
Schultis, Maggi u. Bikfalvi	1964	44	Bronch-, Magen- Colon-, Mamma- Ca.	Periph.	14	-
		(+ 34 Kontrollp.)				
Klassen u. Selbach	1965	61	Bronchial Ca	Periph. lok.	12	vor, während und nach
		(+ 47 Kontrollp.)				

Tabelle III

Untersuchungen mit überwiegend negativen Ergebnissen

Autor	Publ. Jahr	Zahl der Fälle	Tumorart	Entn. St.	%	Manip., Op.
Whang	1958	26	alle Arten	Periph. v.	0	
		11		art.	0	
		8		lok.	12,5	
Scheinin	1962	53	Bronchial Ca	Periph.	1	
	(davon 29)		Bronchial Ca	lok.	9,9	nach
Nabar					20	
Bouvier, Maurice u. Roch	1962	130			8,5	
Herbeuval et al.	1963	240 (davon 48)	alle Arten	Periph. lok.	6 22	
Choné u. Becker	1963	220	alle Arten	Periph.	1,3	

Tabelle IV

Tabellarische Literaturübersicht (1931 - 1965) über Tumorzellbefunde
im Sternal- und Knochenmark

Autor	Publ. Jahr	Zahl der Fälle	Tumorart	Entn. St.	%	Manip., Op.
Pässler	1931		alle Arten	Manubrium- metastasen		
Henning	1936		alle Arten	Ort der Wahl	50	
Markoff	1938		alle Arten	Ort der Wahl.		
Henning u. Keilhack	1939		alle Arten	Ort der Wahl	40-50	
Tischendorf	1940		alle Arten	Ort der Wahl		
Francke	1940		alle Arten	Ort der Wahl		
Rohr u. Hegglin	1937	74	alle Arten	Sternalmark	14	
Selberg	1943	115	alle Arten	Sternal-M.	11	post mortem
Kreyberg u. Poppe			alle Arten	Knochenmark	8	
Whang	1958	40	alle Arten	Sternal-M.	2,5	Tumorzell- embolie!
Fleischer	1961	70	keine Tu der blutbildenden Organe	Sternal-M.	22,2	

Tabelle V

Tumorzellbefunde im Sternalmerk von Patientinnen mit Mammakarzinomen
(Material der Chirurgischen Universitätsklinik Marburg/Lahn,
Oktober 1963 - April 1964).

Name	Alter	Befund	Lokalisation	Stadium
Pa. H.	55 J.	Primar-Ca.+ reg. LK	lat.oben li	II
Ur. A.	51 J.	"	lat.ob/unt.re	II
So. E.	63 J.	Primar-Ca,reg.LK + Pectoralis LK	lat.oben li	III
Sch. R.	35 J.	Primar-Ca. + reg.LK	med.oben li	II
Sch. L.	51 J.	"	med.oben li	II
Fe. D.	63 J.	"	lat.ob/unt. li	II
Ev. K.	53 J.	"	re	II
Rz. M.	50 J.	"	med.oben re	II
He. I.	46 J.	"	med/lat.unten re	II
Sch. E.	51 J.	Primar-Ca. + fibr. cyst. Mastopath.Keine reg.LK		
Li. C.	66 J.	Primar-Ca exulceriert keine reg.LK	med.oben li med.oben re	I I

2. Allgemeine Methodik

- - - - -

An die geeignete Methode der Tumorzellisolierung aus dem Blut stellt man folgende Forderungen:

Sie sollte

1. keine besonderen technischen Schwierigkeiten bieten,
2. keine wesentlichen Änderungen der Tumorzelle bewirken und
3. eine quantitative Ausbeute von Tumorzellen aus dem Blut gewährleisten.

N o r t h r o p e t al. verglichen die häufigst angewandten Methoden auf ihre quantitative Ausbeute an Tumorzellen hin. Sie stellten fest, daß kein wesentlicher Unterschied vorhanden sei. Die Ausbeute betrug bei allen Methoden knapp 90%.

Zu einem anderen Ergebnis kamen S t e v e n s o n und v a n H a a m . Nach ihren Untersuchungen wurde die größte quantitative Ausbeute von Tumorzellen aus dem Blut mit dem 10-micro-Millipore-Filter erzielt.

Zur Tumorzellisolierung gibt es verschiedene Methoden. Immer sollen Erythrocyten und weiße Blutelemente von den Tumorzellen abgetrennt werden. Dies geschieht

1. durch Hämolyse,
2. durch Ausnutzung der unterschiedlichen spezifischen Gewichte der einzelnen Zelltypen,
3. durch die alleinige Sedimentation der Erythrozyten,
4. durch Filtration.

Es gibt zahlreiche Abwandlungen der einzelnen Methoden und Besonderheiten in der Art der Färbung.

Hämolyse. Quensel arbeitete noch mit einfachen Mitteln. Er versetzte das durch Zentrifugieren gewonnene Sediment des Patientenblutes mit Aqua dest. und löste damit die Erythrozyten auf. Nach dem Färben und nochmaligem

Zentrifugieren brachte er den gefärbten Bodensatz auf einen Objektträger. Pool und Dunlop arbeiteten mit hämolysiertem Oxalatblut, fixierten das Sediment in Formalin und stellten Paraffinschnitte her. Bei neueren Untersuchungen von Bertalanffy, von Herbeuval u.a. werden Tumorzellen auch nach diesem Prinzip isoliert, aber mit Acridinorange für das UV-Mikroskop gefärbt.

Ausnutzung der unterschiedlichen spezifischen Gewichte.

Diese Methode wurde 1950 von Fawcett und Mitarbeitern ausgearbeitet. Mit Rinderalbumin und physiologischer Kochsalzlösung trennten sie die Erythrozyten von den leichteren Leukozyten und Tumorzellen und zentrifugierten. Über gute Ergebnisse mit dieser Methode berichteten McGrew (1954), Cole u.a. (1954) und Fisher und Turnbull.

Sedimentation der Erythrozyten. Sandberg und Moore berichteten 1957 von ihrer Methode, die auf Buckley zurückgeht. Das heparinisierte Blut wird mit Rinderfibrinogenlösung versetzt, so daß ein Koagel entsteht. Das überstehende Plasma mit den Tumorzellen wird abpipettiert, zentrifugiert, ausgestrichen und gefärbt.

Aus den letzten beiden Methoden entwickelten Roberts, Watne u.a. eine Zweistufenmethode. Heparinisiertem und mit Rinderfibrinogen versetztem Blut wird das überstehende Plasma genommen, über Albumin geschichtet und zentrifugiert. Die Tumorzellen reichern sich in der Grenzschicht zwischen Albumin und Plasma an. Diddle und Mitarbeiter benutzten diese Methode für den Nachweis von Tumorzellen bei Patienten mit einem Zervixkarzinom.

Filtration. Seal reicherte Tumorzellen durch Filtration an. Dies war die erste quantitative Methode. Das tumorzellhaltige Plasma wird durch einen Filter mit einer Porengröße von 5μ bei negativem Druck filtriert. Die Tumorzellen werden im Filter zurückgehalten und können sofort fixiert werden. Malmgren, Pruitt, del Vecchio und Potter entwickelten diese Methode weiter, da sie herausfanden, daß sich zu viele Tumorzellen bei der Sedimentation mit Fibrinogen

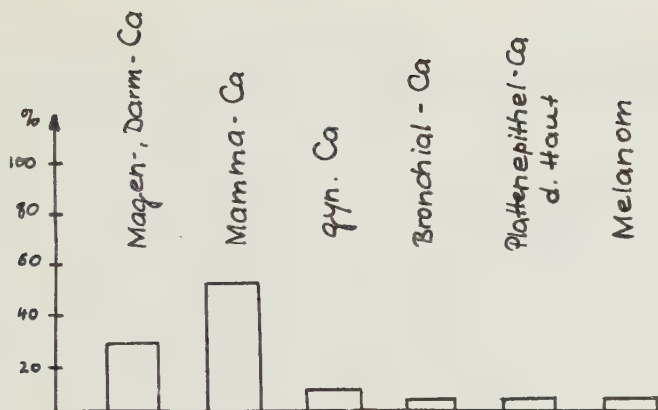
zusammen mit den Erythrozyten absetzten. Sie hämolysierten das Sediment mit Streptolysin O und filtrierten anschließend. Abgewandelt wurde dieses Verfahren von Pruitt, Hilberg und Kaiser. Das hämolysierte Sediment wurde mit Polyvinylpyrrolidon (PVP) versetzt.

Seal selbst verbesserte seine Methode 1959, indem er das wenig haltbare Albumin durch Siliconöl mit einem spezifischen Gewicht von 1,075 ersetzte. Auf das Siliconöl wird PVP und heparinisiertes Blut zu gleichen Teilen geschichtet. Nach dem Zentrifugieren finden sich die Tumorzellen in der Grenzschicht zwischen Siliconöl und PVP - Blutgemisch. Sie werden abpipettiert und in PVP erneut suspendiert. Die Weiterverarbeitung erfolgt durch Filtrieren. Gastpar empfiehlt dieses Vorgehen als Methode der Wahl.

Da bislang die Bedeutung des Tumorzellnachweises im Blut und Knochenmark für den weiteren Verlauf der Krankheit noch nicht geklärt ist, haben wir an Hand des Krankengutes der Chirurgischen Universitätsklinik Marburg untersucht, wann bei verschiedenen Karzinomen Tumorzellen im Blut und wann beim Mammakarzinom im besonderen im Sternalmark Tumorzellverbände nachzuweisen sind. Wir haben weiterhin versucht festzustellen, welche Bedeutung der Nachweis von Karzinomzellen im Blut und Sternalmark für die Prognose des Kranken hat.

3. Material und Methodik

Bei dem untersuchten Krankengut handelt es sich um Patienten, die in der Zeit von Oktober 1961 bis Februar 1962, von August 1962 bis Oktober 1962 und von Oktober 1963 bis Mai 1964 in der Chirurgischen Universitätsklinik Marburg in stationärer Behandlung waren. Die insgesamt untersuchten Patienten teilen sich prozentual folgendermaßen auf:



Verteilungsmuster der untersuchten Karzinomfälle

Die Sternalpunktate wurden von Patientinnen mit histologisch gesichertem Mammakarzinom entnommen. Während der Operationsnarkose wurde in Höhe des 2.-3. Rippenknorpels punktiert. Die Ausstriche wurden nach Pappenheim gefärbt. Der Tumorzellnachweis im peripheren Blut wurde ebenfalls nur bei Patienten mit histologisch gesicherten Karzinomen durchgeführt. Nach der Methode von Graeber wurden die Tumorzellen aus dem Blut isoliert:

"Vor der Blutentnahme werden in eine 10 ccm Rekordspritze 2 ccm Natrium-Citricum gegeben, um die Gerinnung des Blutes zu verhüten. Dann entnimmt man aus der Cubitalvene des Patienten 8 ccm Blut. Durch vorsichtiges Schwenken der Spritze erfolgt eine größtmögliche Durchmischung des Venenblutes mit dem Natrium-Citrat. Alterationen des Blutes und der darin evtl. enthaltenen Tumorzellen müssen unbedingt vermieden werden.

Sofort nach Entnahme wird das Blut weiterverarbeitet, da sonst die sehr empfindlichen Tumorzellen durch die proteolytischen Fermente zerstört werden können. Für die Aufarbei-

tung des Citratblutes werden zunächst benötigt:

In Chromschwefelsäure gereinigte Vollpipetten sowie runde und konische 50 ccm fassende Zentrifugengläser. Periston und Siliconöl werden für die Trennung der zellulären Bestandteile des Blutes auf Grund ihres spezifischen Gewichts verwendet. 10 ccm Siliconöl, das auf ein spez. Gewicht von 1,075 eingestellt ist, werden in ein rundes Zentrifugenglas gegeben. Darüber werden 20 ccm Periston geschichtet. Da eine Vermischung der beiden Flüssigkeiten nicht stattfindet, kommt es zu einer scharfen Abgrenzung. Das frisch entnommene Citratblut mischt sich sofort mit dem Periston. Es hält die spezifisch leichteren Thrombocyten sowie etwaige Zellfragmente in Suspension. Sodann wird zentrifugiert. Um eine optimale Trennung der zellulären Blutbestandteile zu erreichen, ist es notwendig, daß die Zentrifuge die vorgeschriebene Tourenzahl von 1500 Umdrehungen/min. sehr schnell erreicht und 15 min. konstant hält.

Durch die Zentrifugalkraft trennen sich die zellulären Bestandteile des Blutes gemäß ihrem spezifischem Gewicht. Die Erythrocyten und Leukocyten mit ihrem hohen spezifischen Gewicht von mehr als 1,075 werden durch das Siliconöl von den spezifisch leichteren Lymphocyten und Tumorzellen getrennt. Diese Tumorzellen und Lymphocyten liegen in der Grenzschicht zwischen dem Siliconöl und dem Periston-Plasma-Gemisch.

Das Periston-Plasma-Gemisch wird bis etwa 5 mm oberhalb der Grenzschicht abpipettiert. Durch Zugabe von 40 ccm Periston kann die Schicht, welche die Tumorzellen enthält, von der Oberfläche des Siliconöls abgewaschen und in Periston resuspendiert werden. Die Tumorzellsuspension wird dann in ein konisches Zentrifugenglas gegeben und erneut zentrifugiert. Um die bestmögliche Schonung des Zellmaterials - vor allem der Tumorzellen - zu gewährleisten, darf die niedrige Tourenzahl von 800 Umdrehungen/min. nicht überschritten werden.

Empirisch hat sich eine Dauer von 30 min. beim Zentrifugieren bewährt. Nach diesem zweiten und letzten Zentrifugiervorgang hat sich die gewünschte Zellfraktion im Konus des Glases angereichert".

G r a e b e r färbte seine Ausstriche nach Papanicolaou. Wir färbten ein Präparat zusätzlich nach Pappenheim, um die Differenzierung der Tumorzellen gegenüber den weißen Blutzellen besser sichern zu können.

4. Eigene Ergebnisse

- - - - -

I. Blut

Bei 15 Patienten wurden an zwei, teilweise auch an drei verschiedenen Zeitpunkten Blut entnommen. Insgesamt wurden 75 Ausstriche im Mikroskop untersucht.

Tumorverdächtige Zellen fanden wir nur bei zwei Patienten in zwei und drei Ausstrichen einer Blutentnahme. Dabei handelte es sich einmal um ein Bronchialkarzinom des rechten Lungenunterlappens bei einem 57-jährigen Mann. Die verdächtigen Zellen stammten aus der Blutentnahme, die während der Operation aus den Lungenarterien gemacht worden war. Beim gleichen Patienten fanden wir in den Ausstrichen des peripheren Blutes keine Tumorzellen. Im zweiten Fall fanden wir die Tumorzellen bei einer Patientin mit einseitigem, in die Umgebung metastasiertem Ovarialkarzinom. Die Ausstriche waren vor der Operation, aber nach einer Strahlenbehandlung angefertigt worden. In beiden Fällen waren die Karzinome inoperabel. Von den insgesamt 15 Patienten stellten sich 5 als inoperabel heraus.

Beschreibung der Ausstriche aus dem Blut:
mit tumorverdächtigen Zellen:

Präparat K.S., Bronchialkarzinom:

Zu sehen sind eine größere Zahl von Erythrocyten, wenige

kleine Lymphocyten, wenige Granulocyten; dann Zellen von doppeltem Erythrocytendurchmesser mit ganz unregelmäßigem, exzentrisch gelegenen Kern. Das Plasma ist z.T. vakuolig, ein Teil der Zellen ist geschrumpft.

Wahrscheinlich handelt es sich um Zellen eines kleinzelligen Tumors.

Präparat A.F., Ovarialkarzinom:

Keine Erythrocyten, keine Leukocyten im Ausstrich. Rundliche Zellen von etwa doppeltem Erythrocytendurchmesser: Es handelt sich mit Sicherheit um blutfremde Elements.

II. Sternalmark

Unter den 11 Patientinnen mit erwiesenem Mammakarzinom befanden sich 9 Patientinnen mit einem gut tastbaren Lymphknoten in der seitengleichen Achselhöhle. Bei einer weiteren Patientin bestand neben dem Karzinom gleichzeitig eine fibröscystische Mastopathie; Lymphknoten waren in diesem Fall nicht zu tasten.

Bei einer anderen Patientin war der Tumor exulzeriert. Karzinomatös veränderte Lymphknoten waren auch während der Operation nicht nachzuweisen.

Sichere Tumorzellen fanden wir bei 3 Patientinnen, die sich im Stadium Steinthal II befanden, fragliche Tumorzellen wies eine Patientin auf, die sich ebenfalls im Stadium Steinthal II befand.

Die Tumorzellen in den Ausstrichen beobachteten wir teils einzeln, teils in Haufen liegend.

Ausstriche von Sternalpunktaten mit Tumorzellen

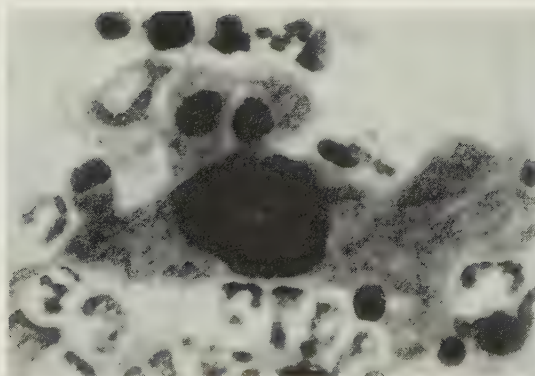
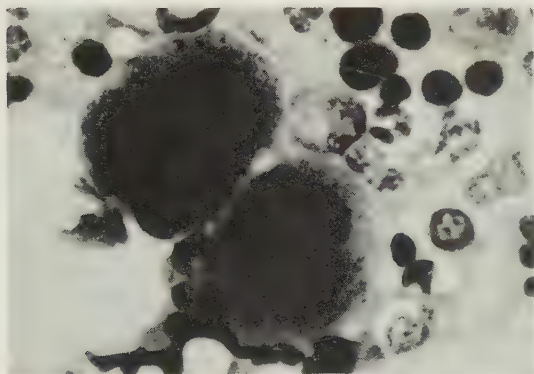


Tabelle VI

Vergleich von Ergebnissen einiger Autoren mit eigenen Ergebnissen

Jahr	Autor	Anzahl d. Pat.	unters. Mat.	Tumorzellfund in %
1. 1934	Pool, Dunlop	40	per. Blut	42,5
2. 1955	Engell	140	per. Blut	7,9
3. 1955	Fisher, Turnbull	25	lok. Blut	61
4. 1958	Chaudhuri	25 (Mamma-Ca)	V. mesent.	32
5. 1959	Engell	125	per. Blut	12
6. 1963	Choné, Becker	220	St. P.	12
7. 1964	Schultis u. a.	44	lok. Blut	61
8. 1965	Klassen u. Selbach	61 (Bronchial-Ca)	per. Blut	1,3
1964	eigene Fälle	25	per. Blut	14
			lok. Blut	12
			per. Blut	42
			lok. Blut	7,1
			St. P.	33,3
				39

5. Zum Vergleich der Statistiken verschiedener Autoren

mit unseren Ergebnissen (s.Tab.VI).

Um unsere Ergebnisse mit denen anderer Autoren vergleichen zu können, haben wir einen repräsentativen Querschnitt aller uns zur Verfügung stehender statistischer Angaben über Tumorzellnachweise wiedergegeben.

Auffallend ist, daß der Tumorzellnachweis im peripheren Blut allen Autoren nur in wenigen Fällen gelungen ist - durchschnittlich in 15%.

Mit 51% dagegen ist der positive Tumorzellnachweis im Blut der großen Venen karzinomatös veränderter Organe im Durchschnitt erheblich häufiger möglich.

Da uns der Nachweis im peripheren und Organblut in nur je einem Fall gelang, liegen unsere Werte an der unteren Grenze aller vergleichbaren Ergebnisse. Auch die Autoren 2 / 4 / 6 / 8 haben nur in wenigen Fällen Tumorzellen im peripheren Blut finden können. Nur ein Autor (4) hat bei Patientinnen mit einem Mammakarzinom Tumorzellen im Sternalmark nachzuweisen versucht. Sein Ergebnis mit 12% liegt unter unserem Wert von 39% (3 Patienten von 11) positiver Befunde.

Um unsere Untersuchungen zu ergänzen, haben wir das weitere Schicksal der Patienten bis zu 5 Jahren verfolgt. Über die Patienten wurden teils von den Hausärzten und Angehörigen Auskünfte eingeholt, teils wurden sie von uns nachuntersucht.

In 22 von 25 Fällen konnte dem Verlauf der Krankheit anschließend an die Operation nachgegangen werden. Die Nachuntersuchungen ergaben folgendes Bild:

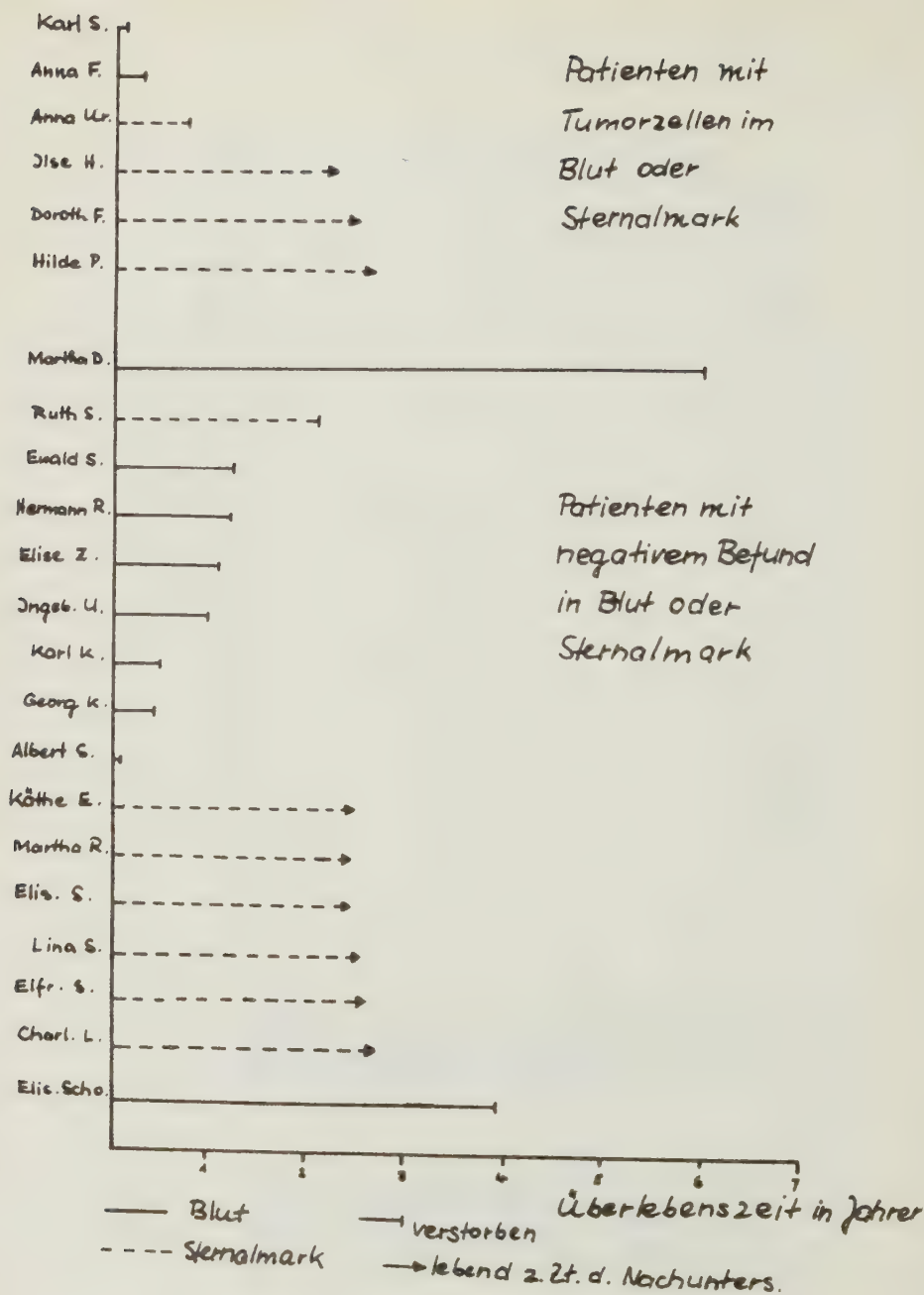
Tabelle VII

Name	Diagnose	Blutentnahme aus Periph. lok. St.P.	lebt	verstor- ben	nach Angaben v.Pat.od.Angen. Klinik	HA od
Justus B.	Cardia-Ca	+		+		
Maria Br.	Magen-Ca	+		+		
Martha Di.	Rektum-Ca	+		+		
Käthe Ew.	Mamma-Ca			+		+
Doroth.Fer.	Mamm-Ca		+			+
Anna Feu.	Ovarial-Ca	++	+		+	+
Ilse Hes.	Mamma-Ca					
Emma Jan.	Melanom	+	+			+
Karl Kep.	Cardia-Ca	+		+		+
Georg Ko.	Colon-Ca	+		+		+
Charl.Li.	Mamma-Ca			+		+
Hilde Pa.	Mamma-Ca		+	++		+
Hermann Ree.	Cardia-Ca	+	+			+

++ = positiv + = negativ

Name	Diagnose	Blutentnahme aus Periph. lok. St.P.	lebt	verstor- ben	nach Angaben v. Pat. od. Angeh. Klinik	HA od.
Martha Rz.	Mamma-Ca	+		+		
Karl Schä.	Bronchial-Ca	+	++	+		+
Elfr. Schm.	Mamma-Ca		+	+		+
Ewald Schm.	Plattenepith. d. O-Arms	+	+	+		+
Elis. Scho.	Mamm-Ca.	+		+		+
Albert Schn.	Rektum-Ca	+		+		+
Lina Schup.	Mamma-Ca		+	+		+
Ruth Schw.	Mamma-Ca		+	+		+
Elis. So.	Mamma-Ca		+	+		+
Anna Urt.	Mamma-Ca		++	+		+
Elise Za.	Mamma-Ca	+		+		+
Ingeb. Ull.	Collum-Ca	+		+		+

++ = positiv + = negativ



Die Fünfjahresgrenze gerechnet vom Tag der Operation überlebte 1 Patient, die Dreijahresgrenze eine Patientin, die aber als einzige nicht an ihrem Karzinom starb, sondern aus anderer Ursache.

10 Patienten leben noch heute und haben damit alle die Zweijahresgrenze überschritten.

3 weitere Patienten überlebten das erste Jahr,

5 starben nach drei Monaten,

2 lebten weniger als drei Monate nach der Operation.

Von den 6 Patienten, bei denen Tumorzellen im Blut oder Sternalmark gefunden wurden (ein Fall war fraglich), starben 3 noch im gleichen Jahr. Die 3 anderen Patienten überlebten die Zweijahresgrenze, aber mit klinischen Zeichen eines sich ausbreitenden Karzinoms.

Eine Patientin zeigte eine allgemeine Lymphknotenmetastasierung mit progressivem Kräfteverfall, die zweite Patientin hatte tastbare regionäre Lymphknotenmetastasen und bei der dritten fand sich ein Knötchen parasternal, dessen Bösartigkeit allerdings ungeklärt blieb.

6. Diskussion

- - - - -

Außer der frühzeitigen radikalen Entfernung des Tumors durch chirurgische oder strahlentherapeutische Maßnahmen, gibt es bis heute keine Möglichkeit, das Tumorwachstum aufzuhalten. Da die klinischen, röntgenologischen und Laboratoriumsuntersuchungen bisher nur in wenigen Fällen eine frühzeitige Tumordiagnose erlauben, erscheint es notwendig, alle Möglichkeiten zu untersuchen, die ein frühes Erfassen der Krankheit und eine Prognose zu stellen erlauben.

Vorausgesetzt, daß Geschwulstzellen zeitig ins periphere Blut eingeschwemmt werden und auch im Knochenmark erschei-

nen, wäre die Isolierung von Tumorzellen aus Blut und Sternalmark in einem Anfangsstadium des Tumorstadiums eine geeignete Methode zur Früherfassung von Karzinomen. Jedoch erschweren eine Reihe von Ursachen die Tumorzellsuche in den Blut- und Knochenmarksausstrichen.

Nach Ergebnissen von Herbeuval-Herbeuval kommen auf 40 Millionen Leukozyten 1 - 3 Tumorzellen, Zahlen, die eine diagnostische Erfolgsaussicht stark reduzieren. Nicht jedes Karzinom streut zu jeder Zeit Zellen aus. Die Ausschwemmung hängt vom Stadium der Erkrankung und der histologischen Wachstumsform ab. Es kann also "positive" und "negative" Phasen im Verlauf einer Krebserkrankung geben, d.h. Stadien mit und ohne einen Tumorzellbefund im Blut. In diesem Zusammenhang sind Untersuchungen von Romsdahl u.a. sehr aufschlußreich. Sie stellten bei der Implantation von Walker -256-Karzinomzellen fest, daß 4 Minuten nach Applikation einer Zellausschwemmung in die Muskulatur des Oberschenkels 99% der Tumorzellen nicht mehr in der Blutbahn zu finden sind. Das heißt also, daß die Verweildauer einer einzelnen Tumorzelle im peripheren Blut ganz gering ist.

Ein weiteres Problem, das bei der Ausschwemmung eine Rolle spielt, ist die Frage nach dem Lungenfilter. Nach M.B. Schmidt wird ein Teil der Tumorzellen in den Lungenkapillaren festgehalten und in fibröse Thromben eingeschlossen. Die schon oben angeführten Untersuchungen von Zeidman weisen auf die Rolle der Lymphe und Lymphknoten als "gefährliches Milieu" für Karzinomzellen und als Hindernis bei der Ausbreitung von Tumorzellen hin. Auch das Blut und Endothel besitzt zytolytische Eigenschaften, durch die blutfremde Zellen teilweise abgebaut werden.

Die Diagnose im Mikroskop endlich kann Schwierigkeiten bereiten, weil es ein spezifisches Merkmal der Malignität an der Einzelzelle nicht gibt. Jede Diagnose hängt also auch zu einem geringen Teil vom Betrachter und seiner Beurteilung auch zweifelhafter Malignitätszeichen ab. In diesem

Zusammenhang kamen Meisels u.a., wie schon erwähnt, zu einem extremen Ergebnis. Sie stellten nach einem Vergleich mit Ausstrichen von gesundem Knochenmark fest, daß alle atypischen Zellen in den Blutausstrichen ihrer krebskranken Patienten Megakaryozyten waren.

Haemmerli und Sträuli fanden, wie schon berichtet, bei einem Fall von Prostatakarzinom mit ausgedehnter Knochenmetastasierung sogar Osteoklasten im Blut. Neben diesen Fällen mit ungewöhnlichen Zellen im Blut sind in der Literatur aber auch Fälle bekannt, in denen Kontrollpatienten einen "positiven" Befund aufwiesen. Daraus geht hervor, wie eingehend jede ungewöhnliche Zelle betrachtet und wie kritisch sie beurteilt werden muß, bevor eine Diagnose gestellt werden kann.

Die Frage, ob bei operablen oder bei inoperablen, fortgeschrittenen Karzinomen mehr Zellen ins periphere Blut ausgeschwemmt werden, läßt sich auf Grund unserer Ergebnisse nicht beantworten. Sichere Tumorzellen fanden wir einmal im Blut der Arteria pulmonalis bei einem Patienten mit einem inoperablen Bronchialkarzinom und bei einer an einem Ovarialkarzinom mit Metastasen des Peritoneums und der Lymphknoten des kleinen Beckens erkrankten Frau im peripheren Blut. Der Patient starb im ersten halben Jahr nach der Thorakotomie. Die Patientin verstarb fünf Monate nach einer Rezidivoperation, die ein Jahr nach der ersten Operation stattfand.

Unsere Tumorzellbefunde im peripheren Blut und im Blut der großen Organvenen beschränken sich also auf zwei Patienten mit bereits inoperablen Karzinomen. In allen anderen Fällen, teils operablen, teils inoperablen Karzinomen, fanden wir keine Tumorzellen. Die nachgehenden Untersuchungen unserer Patienten zeigten keinen nennenswerten Unterschied der Überlebensrate bei positiven oder negativen Tumorzellbefunden im Blut.

Engell hat ebenfalls das Schicksal von Karzinomträgern über fünf Jahre verfolgt. Auch er fand keinen Zusammenhang zwi-

schen dem positiven Nachweis von Tumorzellen im Blut und der Überlebenszeit. 51% seiner Karzinomkranken, die die Fünfjahresgrenze überschreiten konnten, hatten einen positiven Tumorzellbefund im Blut. Wie schon erwähnt, liegen aber die Zahlen von positiven Tumorzellnachweisen bei Untersuchungen von Blut aus den venösen Abflußgebieten der karzinomatösen Organe bedeutend höher als im peripheren Blut. Engells Zahlen sind das Ergebnis von Blutuntersuchungen aus den Operationsgebieten der Karzinome. Beim Vergleich unserer Ergebnisse mit denen von Engell läßt sich übereinstimmend feststellen, daß dem Tumorzellnachweis sowohl im peripheren Blut als auch im venösen Abflußgebiet der karzinomatösen Organe prognostisch nur geringe Bedeutung zukommt.

Das Auffinden von Tumorzellen in Sternalpunktaten Krebskranker wird unterschiedlich beurteilt. Als zufälliges Ereignis beschreibt es W. F i s c h e r (zit.nach Gimm und Krönke), als nur von bedingter Bedeutung K.H. B a u e r, nämlich dann, wenn auch mit Sicherheit Knochenmetastasen vorhanden seien, könne man in 40% positive Ergebnisse erzielen. K o r i n t h hingegen gibt an, in fast allen Fällen seiner Karzinompatienten Tumorzellen im Sternalmark gefunden zu haben.

Mit dem Tumorzellnachweis im Sternalpunktat von Patientinnen mit einem Mammakarzinom wollten wir feststellen, ob und bei wieviel Patientinnen Tumorzellverbände im Sternalmark zu finden seien, ob ein positiver Befund abhängig vom Stadium des krebsees und abhängig von der Lokalisation des Primärknotens im Brustdrüsenkörper ist. Durch die Nachuntersuchung sollte festgestellt werden, ob eine Beziehung zwischen positivem Tumorzellnachweis und Überlebenszeit besteht.

Bei 3 von 11 Patientinnen fanden wir sichere Tumorzellen, bei einer Patientin fragliche im Sternalmark. In allen Fällen wurde eine einseitige Mammaamputation mit Röntgen-

nachbestrahlung durchgeführt.

Alle 4 Patientinnen mit Tumorzellbefunden waren im Stadium Steinthal II. Bei einer Patientin mit einem Mammakarzinom im Stadium Steinthal III fanden wir wider Erwarten keine Tumorzellen im Sternalpunktat.

Bei allen 4 Patientinnen mit sicheren und fraglichen Tumorzellen im Sternalmark waren die äußeren Quadranten des Brustdrüsenkörpers vom Primärtumor durchsetzt. Es scheint also bei der Lokalisation des Primärtumors in den äußeren Quadranten zu bevorzugter Tumorzellabsiedlung in das Sternalmark zu kommen, soweit wir diese Feststellung bei der kleinen Zahl der Fälle wagen dürfen. Wir haben keine Ergebnisse anderer Autoren gefunden, daß Mammakarzinom von einem bestimmten Quadranten ausgehend bevorzugt ins Sternalmark metastasieren. Es besteht allerdings ein Unterschied in der Prognostik der rechten gegenüber der linken Seite (Ruef, zit.n.K.H.Bauer): Die Fünfjahresgrenze erreichten 58,8% der Patienten mit einem linksseitigen, nur 43,8% der Patienten mit einem rechtsseitigem Mammakarzinom. Die Erklärung hierfür sieht der Verfasser in der Tatsache, daß die meisten Menschen Rechtshänder sind und damit einen Knoten in der linken Brust eher tasten als in der rechten.

Bei der Nachuntersuchung stellte sich heraus, daß in der Gruppe der Patientinnen mit positivem Tumorzellnachweis eine Patientin (A.Ur.) bereits nach 10 Monaten gestorben war. Eine weitere Patientin (I.He.) zeigte nach 2 1/2 Jahren eine fortgeschrittene Lymphknotenmetastasierung ohne lokales Rezidiv. Die Patientin mit dem fraglichen Tumorzellbefund (H.Pa.) bot zum gleichen Zeitpunkt das Bild einer schweren Tumorkachexie bei ausgedehnt metastasierendem Mammakarzinom. Im letzten Fall (D.Fe.) mit sicherem Tumorzellnachweis fand sich ein erbsgroßes, indolentes Knötchen parasternal auf der Seite der amputierten Brust. Da hier keine diagnostische Exzision vorgenommen wurde, kann nicht gesagt werden,

ob es sich um ein lokales Rezidiv handelte.

Es zeigte sich, daß bei positivem Tumorzellnachweis im Sternalpunktat die überwiegende Zahl der Patientinnen nach 2 1/2 Jahren entweder verstorben oder die Zeichen eines fortgeschrittenen Mammakarzinoms mit ausgedehnter Metastasierung aufwies.

Von den Patientinnen mit fehlendem Tumorzellbefund war eine Patientin an den Folgen ihres Karzinoms gestorben. Die restlichen 6 Patientinnen schienen gesund und boten klinisch keinen Anhalt für Metastasen eines Mammakarzinoms. Es erwies sich also, daß Patientinnen mit einem positiven Tumorzellnachweis im Sternalmark eine schlechte Prognose haben, während sich für Patientinnen mit fehlendem Tumorzellnachweis eine günstigere Prognose stellen läßt. Zum Vergleich unserer Befunde stehen uns Ergebnisse von G i m m und K r ö n k e zur Verfügung. Die Autoren sind der Auffassung, daß aus der Tatsache, daß Tumorzellen im Sternalmark Karzinomkranke vorhanden seien, man nicht den Schluß ziehen könne, daß sie sich auch ansiedeln und Metastasen bilden würden. Als Beispiel brachten sie Fälle von Bronchialkarzinomen, bei denen sie Tumorzellen im Sternalpunktat gefunden hatten. Nachdem der Primärtumor durch Lungenresektion entfernt worden war, konnten keine Anzeichen von Metastasen im Sternalmark oder einer allgemeinen Metastasierung bei der Nachuntersuchung festgestellt werden. Um nun unseren an Hand weniger Fälle, die bis 2 1/2 Jahre verfolgt werden konnten, gewonnenen Eindruck zu sichern, wäre es notwendig, eine größere Anzahl von Mammakarzinomfällen über fünf und zehn Jahre zu verfolgen. Dann erst ließe sich eine eindeutige Aussage über den Wert des positiven oder fehlenden Tumorzellnachweis im Sternalmark für Mammakarzinompatienten machen.

Ein Vorteil der Sternalmarkspunktionen gegenüber der Tumorzellisolierung aus dem strömenden Blut ist die einfachere technische Durchführung. Sie ist in jedem klinischen Labor möglich, bedarf jedoch einer besonderen Erfahrung des den

Sternalpunktatsausstrich beurteilenden Arztes. Wir möchten anregen, auch bei anderen Karzinomen, die vorzugsweise in das Skeletsystem metastasieren, den Tumorzellnachweis im Sternalmark zu versuchen und damit eventuell eine Prognose für den Verlauf der Erkrankung mit ihren therapeutischen Folgerungen stellen zu können.

Im Gegensatz hierzu stehen dem Tumorzellnachweis aus dem Blut erhebliche Schwierigkeiten entgegen. Der technische Aufwand ist sehr groß und läßt sich nicht überall durchführen. Zudem ist, wie wir aus eigenen und anderen Ergebnissen gesehen haben, die Erfolgssicherheit der verschiedenen Methoden nicht groß genug, um im Augenblick den Tumorzellnachweis des Blutes als Routinemethode einzuführen.

7. Zusammenfassung

- - - - -

Da die Prognose einer Karzinomerkrankung neben der Art des Karzinoms auch von dessen Stadium der Ausbreitung abhängt, war es Ziel unserer Arbeit festzustellen, ob Blut- und Sternalmarkuntersuchungen bei Karzinomträgern zur Früherfassung geeignet sind und ob der Tumorzellnachweis und die Intensität der Tumoraussaat für Operabilität und weiteren Verlauf der Erkrankung von Bedeutung sind.

Zur Isolierung der Tumorzellen aus dem Blut wandten wir die Methode nach Graeber an, färbten die Präparate aber sowohl nach Papanicolaou als auch mit Hämatoxylin-Eosin. Die Sternalmarkausstriche wurden nur mit Hämatoxylin-Eosin gefärbt.

Ausgewertet wurden 75 Blutaussstriche von 15 Patienten, deren Karzinom erst durch die Operation gesichert wurde. Vor der Operation fanden wir in einem Ausstrich der Vena cubitalis Tumorzellen. In ebenfalls einem von sechs Fällen gelang der Tumorzellnachweis in dem Blut der Vene des karzinomatös veränderten Organs. Negativ waren die Aus-

striche des peripheren Blutes nach der Operation.

Bei den 11 untersuchten Patientinnen mit einem Mammakarzinom handelte es sich um intraoperativ gesicherte Karzinome, bei denen in der Operationsnarkose das Sternalpunktat angefertigt wurde. Bei drei Patientinnen ergaben sich sichere, bei einer vierten Patientin fragliche Tumorzellen im Sternalpunktat. Alle vier Patientinnen befanden sich zum Zeitpunkt der Operation im Stadium Steintal II.

Da die Anzahl der positiven Befunde im Blut zu gering ist, erscheint diese Untersuchungsmethode zur Früherfassung von Karzinomen nicht geeignet. Auch eine Einteilung in operable und inoperable Fälle ist bei der geringen Zahl der positiven Befunde nicht möglich.

Die Ergebnisse der Sternalpunktate sind vor allem in Hinblick auf den weiteren Verlauf des Krankheitsprozesses zu beurteilen. Die Anzahl der positiven Befunde in Abhängigkeit vom Stadium und ein Zusammenhang der Lokalisation des Primärtumors mit der Häufigkeit von Tumorzellabsiedlungen in das Brustbein werden diskutiert.

Durch die Nachuntersuchung, die durch die vorangegangenen Ergebnisse für die Blutwerte keine wesentliche Bedeutung erlangt⁴, ergibt sich eine deutlich schlechtere Prognose für Patientinnen mit positivem Befund im Sternalmark gegenüber Patientinnen ohne Tumorzellbefund.

Literaturverzeichnis

1. B a u e r, K.H.: Das Krebsproblem, 2 Aufl.1963, Springer-Verl.
2. B e r k, J.E.: Der Tetracyclin-Fluoreszenztest zum Nachweis des Magenkarzinoms, Triangel, März 1963
3. B e r t a l a n f f y, F.D.: Fluoreszenzmikroskopie nach Acridinorangefärbung. Triangel, Sept. 1961
4. C h a u d h u r i u. B a h l, S.: A study of bone marrow and peripheral blood in breast carcinoma. Ind.J.Surg. 20, Auszug
5. C h o n é u. B e c k e r: Die praktische Bedeutung der peripheren Tumorzelldiagnostik. Münchn.Med.Wchschr. 1/33-37/1964
6. C h r i s t o p h e r s o n, W.M.: Cancer Cells in the peripheral Blood: A Second Look. Acta Cytol. 9/169-173/1965
7. E b n e r u. S a n d r i t t e r: Die morphologischen Grundlagen der cytologischen Krebsdiagnostik. Hess. Ärzteblatt 7/370-376/1963
8. E n g e l l: Cancer cells in the circulating blood. Acta chir.scand. 201/1955
9. F i s h e r, E.R. u.B.: Experimental Study of Factors Influencing Development of Hepatic Metastases from Circulating Tumor cells. Acta Cytol. 9/146-159/1965
10. F i s h e r u. T u r n b u l l: The cytologic demonstration and significance of Tumor Cells in the Mesenteric venous Blood in Patients with Colorectal Carcinoma. Surg.,Gyn.,Obstetr. 100/102/1955
11. F l e i s c h e r: Tumorzellen im peripheren Blut und Sternalmark. Med.Welt 422/1961
12. F o s s, M e s s e l t, E f s k i n d: Isolation of Cancer cells from Blood and Thoracic Lymph by Filtration. Repr.from Surgery,St.Louis,Vol.53/2/1963
13. F r o s t, J.K.: Cancer cells in Circulating Blood: A Comparison with Cytologic Criteria for other Sites. Acta Cytol. 9/83-93/1965

14. G a s t p a r: Zur Frage der Methodik und des Nachweises von Tumorzellen im peripheren Venenblut. Münchn.Med.Wchschr.49/2416-2421/1961
15. G i m m u. K r ö n k e: Über Krebszellbefunde im Sternalmark. Ztrbl.f.Chir.83/127-135/1958
16. G o l d b l a t t, S.A., N a d e l, E.M.: Cancer Cells in the Blood: A Critical Review. Acta Cytol.,9/6-20/1965
17. G r a e b e r: Nachweis von Tumorzellen im strömenden Blut des Menschen. Therapeut.Berichte 32/247/1960
18. G r i f f i t h s: The Dissemination of Cancer Cells during operative Procedures. Annals of the Royal College of Surgeons of England, 27/14-44/1960
19. v o n H a a m, S t e v e n s o n: Cancer Cell Detection in the Peripheral Blood. Acta Cytol.9/100-115/1965
20. H a e m m e r l i u. S t r ä u l i: Osteoclasten im peripheren Blut: Ein Beitrag zur Differentialdiagnose von Tumorzellen im Blut. Klin.Wchschr.8/396-398/1963
21. H e n n i n g, W i t t e, B r e s s e l: Über das Problem des Tumorzellnachweises im Blut. Med.Klin. 14/623-625/1961
22. H e r b e u v a l, R.u.H., Duheille: Eine Methode für den Nachweis von Krebszellen im Blut.Triangel VI/2/1963
23. H e r b e u v a l, H., Fourot. Hettich, Herbueval, R.: Endothelial Cells and Circulating Blood Clumps: Differential Diagnosis. Acta Cytol.9/68-72/1965
24. H e r b e u v a l, R. D u h e i l l e, G o e d e r t- H e r b e u v a l: Diagnosis of Unusual Blood Cells by Immunofluorescence. Acta Cytol.9/73-82/1965
25. K l a s s e n u. S e l b a c h: The prognostic value of cytologic studies of the blood of patients with bronchogenic carcinoma. Thorac. and cardiovasc. Surg. 50/127/1965
26. K o e s t e r: Die Zytologie als Methode zur Früherkennung des Genitalcarcinoms der Frau. Hess.Ärztebl. 7/376-379/1963

27. K o r i n t h: Tumordiagnostik aus dem Knochenmark.
Münchn.Med.Wchschr.97/289/1955
28. K r ü c k e m e y e r: Zur zytologischen Tumorzell-
diagnostik im Leichenblutgerinnsel.Münchn.Med.Wchschr.
38/1964
29. M a l m g r e n: Problems in Techniques used in Blood
Specimen Preparation. Acta Cytol.9/97-99/1965
30. M c G r e w: Criteria for Recognition of malignant
Cells in circulating Blood. Acta Cytol.9/58-60/1965
31. M e y e r: On avoiding the dissemination of cancer
cells into the blood stream.Surg.,Gyn.,Obstetr.118/
1073/May 1964
32. H a r d: On avoiding the dissemination of cancer
cells into the blood stream.Surg.,Gyn.,Obstetr.118/
1074/May 1964
33. H o r w i t z: On avoiding the dissemination of cancer
cells into the blood stream.Surg.,Gyn.,Obstetr.118/
1075/May 1964
34. M o o r e: The Significance of Cancer Cells in the
blood.Surg.,Gy.,Obstetr.110/360-361/March 1960
35. M o o r e, S a n d b e r g: Clinical Aspects of Cancer
Cells in the Blood.Acta Cytol.9/175-184/1965
36. M o o r e, S a n d b e r g, W a t n e: The comparative
Size and Structure of Tumor Cells and Clumps in the
Blood, Bone Marrow, and Tumor Imprints.Cancer 13/111-
117/1960
37. N a d e l: Prospice - Tumor Cells in circulating Blood.
Acta Cytol.9/185-188/1965
38. N a g y: A Study of normal, atypical and neoplastic
Cells in the white Cell Concentrate of the peripheral
Blood.Acta Cytol.9/61-67/1965
39. N o r t h r o p, P a t t e n, R e a g a n: A comparative
experimental Study of Technics for Tumor Cell Isola-
tion from Blood.Acta Cytol.9/134-135/1965
40. P e c k h o l z u. M e l c h e r t: Tumorzellsuche
im Venenblut im Hinblick auf die postoperative Be-
treuung Geschwulstkranker.Ztrbl.f.Chir.36/313-317/1966

41. P o t t e r, L o n g e n b a u g h et al.: The Relationship of Tumor Type and Resectability to the Incidence of Cancer Cells in Blood.Surg.,Gyn.,Obstetr. 110/734/1960
42. P r u i t t, P o w e l l, P r a t e r : A quantitative Comparison of processing Techniques.Acta Cytol.9/116-122/1965
43. Q u e n s e l: Zur Kenntnis des Vorkommens von Geschwulstzellen im Blut. Upsala Läkareförenings förhandlingar,Bd.XXVI,H.5-6/1921
44. R o b e r t s, L o n g et al.: The Isolation of Cancer Cells from the Blood Stream during Uterine Curettage.Surg.,Gyn.,Obstetr.111/3-11/1960
45. R o m s d a h l: Influence of Surgical Procedures on Development of Spontaneous Lung Metastases.J.Surg. Res.4,No.8,363-370/1964
46. R o m s d a h l, M c G r a t h, H o p p e, M c G r e w : Experimental Model for the Study of Tumor Cells in the Blood.Acta Cytol.9/141-145/1965
47. S o o s t: Über das Vorkommen von Tumorzellen im zirkulierenden Blut. DMW 85/893/1960
48. S o o s t: Zum Nachweis von Tumorzellen im Blut beim Genitalcarcinom der Frau.Geburtsh.u.Frauenhklnd. 21./1/1961
49. S o o s t u. M a d: Methoden zur Isolierung von Geschwulstzellen aus dem strömenden Blut. Krebsarzt 7-8/273-283/1960
50. S h i b a t a, R i t c h i e, H o p k i n s, L o n g: Tumorcels in the circulating blood of patients with carcinoma of the breast and of the gastrointestinal tract.Canad.Med.Ass.J.89/868/1963.DMW 89/59/1964
51. S c h u l t i s, M a g g i, B i k f a l v i : Zum fluoreszenzmikroskopischen Nachweis von Tumorzellen im Blut. Med.Welt 14/746/1964
52. S t r e i c h e r: Möglichkeiten und Grenzen klinischer Zytodiagnostik. Med.Welt,34/1658-1664/1961

53. S t r e i c h e r u. S a n d k ü h l e r: Klinische Zytologie. G.Thieme Verl., Stuttgart, 1953
54. W a t n e: The Isolation of tumor cells from the blood: Approaches to technique comparison. Acta Cytol. 9/123-133/1965
55. W e l s h u. M a c k i n n e y: Experiences with aspiration biopsies of the bone marrow in the diagnosis and prognosis of carcinoma of the Prostate Gland. Am. J. Gli. Path. 41/509-512/1964
56. W h a n g: Über Krebszellen im Blut und Knochenmark. Ztschr. f. Krebsforschung 62/397-407/1958
57. W i t t e, B r e s s e l, C z a g a n y: Selten vorkommende Zellen im Blut. Mat. Med. Nordmark XIX/8/441-464/ August 1967
58. Z e i d m a n: Fate of circulating tumor cells. III. Comparison of metastatic growth produced by tumor cell emboli in veins and lymphatics. Cancer Res. 25/324-327/1965
59. Z e i d m a n u. B u s s: Transpulmonary passage of tumor cell emboli. Cancer Res. 12/731-733/1952
60. Z e i d m a n u. B u s s: Experimental studies on the spread of cancer in the lymphatic system. I. Effectiveness of the lymph node as a barrier to the passage of embolic tumor cells. Cancer Res. 14/403-405/1954

L e b e n s l a u f

Am 9. Dezember 1935 wurde ich in Korbach/Waldeck als Tochter des Facharztes für Chirurgie Dr. med. Ernst Euler und seiner Ehefrau Ruth, geb. Handt, geboren.

Im Herbst 1942 bin ich in die Volksschule, im Oktober 1946 in die "Alte Landesschule" in Korbach eingeschult worden, an der ich am 3. März 1956 die Reifeprüfung bestand.

Von April 1956 bis März 1957 besuchte ich die Reifensteiner Landesfrauenschule in Bad Weilbach/Flörsheim.

Im Sommersemester 1957 begann ich das Medizinstudium an der Universität in Freiburg/Breisgau, das ich im Sommer 1958 in Marburg fortsetzte, wo ich im Wintersemester 1959/60 die ärztliche Vorprüfung bestand.

Mit dem klinischen Studium begann ich im Sommersemester 1960 in München. Im Sommersemester 1961 kehrte ich nach Marburg zurück, wo ich am 9. September 1963 das Staatsexamen ablegte.

Meine akademischen Lehrer waren die Herren Professoren
und Dozenten:

in Freiburg:

Brauer, Goerttler, Keller, Koehler, v. Kugelgen,
Lüttringhaus, Maier, Oehlkers, Schmidt, Szilasi.

in München:

Bickenbach, Buchborn, Büngeler, Breitner, Dontenwill,
Eder, Eyer, Forst, Herrlich, Knedel, Krone, Lang,
Martius, Marx, May, Obermiedermayr, Rech, Schinck,
Schwiegk, Stich, Weber, Wiskott, Zenker.

in Marburg:

Bücher, Dimroth, Hensel, Mahr, Niessing, Oksche,
Petry, Rollhäuser, Schmitz, Schultze, Seidel, Wendt.

Beckmann, Berendes, Bock, Braun-Falco, Dittrich,
Exner, Förster, Gedigk, Gross, Hamm, Hartmann,
Heuser, Hildebrandt, Hornung, Huber, Jacob, Kottmeyer,
Lang, Linneweh, v. Manger-König, du Mesnil, Meyer,
Neubauer, Nieth, Oehme, Prinz, Roger, Schadewaldt,
Schmid, Schölmerich, Schrappe, Schwaiger, Siegert,
Siess, Straub, Streicher.

Mein Dank an dieser Stelle gilt besonders
Herrn Prof. Dr. med. H.-J. Streicher
für die freundliche Überlassung des Themas
und die großzügige Unterstützung bei meiner
Arbeit.

